

Aus dem II. Anatomischen Institut  
der Freien Universität Berlin  
Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

---

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN  
AM ENTODERMEPITHEL IN DEN FRÜHEN PHASEN  
DER ENTWICKLUNG DES HÜHNCHENS

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

1971

vorgelegt von

Peter Reibedanz

aus Berlin



Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Willy Schwarz

---

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Entodermepithel  
in den frühen Phasen der Entwicklung des Hühnchens.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Reibedanz

aus Berlin / Deutschland

**Referent: Prof. Dr. med. H.J. Merker**

**Korreferent: Prof. Dr. med. W. Schwarz**



**Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen  
Fachbereiche der Freien Universität Berlin**

**Promoviert am: 4.12.71**

|                         |   |
|-------------------------|---|
| I. Einleitung . . . . . | 1 |
|-------------------------|---|

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| II. Material und Methoden . . . . . | 7 |
|-------------------------------------|---|

|                        |   |
|------------------------|---|
| III. Befunde . . . . . | 9 |
|------------------------|---|

|                          |    |
|--------------------------|----|
| IV. Diskussion . . . . . | 16 |
|--------------------------|----|

|                              |    |
|------------------------------|----|
| V. Zusammenfassung . . . . . | 20 |
|------------------------------|----|

|                          |  |
|--------------------------|--|
| VI. Literaturverzeichnis |  |
|--------------------------|--|

## Einleitung

Das befruchtete Hühnerei verweilt durchschnittlich 22 Stunden im Ovidukt, ehe es gelegt wird. Aufgrund der verschieden langen Verweildauer im Legedarm liegen bei den frisch gelegten Eiern unterschiedliche Reifungsstadien vor. Das Entwicklungsspektrum erstreckt sich von eng gepackten Zellhaufen über allmähliche Streckung der Keimscheibe bis zur deutlichen Trennung von Ektoderm und Hypoblast (Entoderm) (Hays und Nicolaidis, 1934; Hamburger et al., 1951; Patten, 1951; Künzel, 1962; Noack, 1969). Zur Ausbildung der Keimscheibe ist aufgrund des hohen Dottergehaltes (polylezithal) ein besonderes Vorgehen im Gegensatz zu den dotterarmen Eiern (Amphioxus, Mammalia) nötig. Die Dotterkugel drängt das Bildungsplasma nebst Kernaubstanz am animalen Pol zusammen (telolezithal). Bei den nach der Befruchtung einsetzenden Furchungsteilungen wird nur die Keimscheibe geteilt (partielle Furchung), wobei die Teilungen zunächst auf das Zentrum der Keimscheibe beschränkt sind und die Zellen, besonders der Peripherie, durch Plasmaausläufer unmittelbaren Kontakt zum Dotter behalten.

Das scheibenförmige Auswachsen der Zellen ist nach Patten (1951) bedingt durch das mechanische Andrängen der Dotterkugel und die Tatsache, daß sich die Teilungsspindeln mit Vorliebe in der Längsachse des Protoplasmas ausbilden.

In der Mitte der Keimscheibe heben sich die Zellen alsbald vom Dotter ab, so daß ein spaltförmiger Raum zwischen Dotter und Blastoderm entsteht, das Äquivalent zur Blastocoele bei dotterarmen Eiern. Das Äquivalent der Gastrulation bei den Sauropsiden ist lange Zeit umstritten gewesen.

Verschiedene Ansichten wurden zum Mechanismus der Entodermentstehung geäußert, die vereinfacht etwa

folgendermaßen zusammengefaßt werden können:

- 1) Eine Zellbewegung beziehungsweise Einkrempelung über den sogenannten Blastoporus (Patterson, 1909)
- 2) Eine Einkrempelung oder flächenhafte Verschiebung über den Rand der Keimscheibe (Götte, 1874; Duval, 1884 und 1888; Koller, 1879; Graper, 1929; Lutz, 1955)
- 3) Die flächenförmige Delamination der einschichtigen Keimscheibe (Kionka, 1894; Öllacher, 1869; Schauinsland, 1899; Bonnet, 1907; Wetzel, 1929; Peter, 1938; Pasteels, 1945)
- 4) Das Abtropfen isolierter Zellen unter die Keimscheibe und ihre sekundäre Aggregation zur Entodermis (P.C. Baker, 1965; Usadel, 1967; Noack, 1969).

Die letzte Ansicht wird in neuerer Zeit in zunehmendem Maße für wahrscheinlich gehalten. So konnten Noack elektronenmikroskopisch, Usadel et al. histochemisch, ein derartiges Abtropfen deutlich darstellen. Ähnliche Befunde hat P.C. Baker (1965) bei der Gastrulation des Baumfrosches aufgedeckt.

Die dotterreichen Zellen des Blastoderms nehmen zunächst eine flaschenförmige Gestalt an, wobei der Hals noch im oberen Zellverband haften bleibt, während der aufgetriebene Zelleib bereits in die subgerminale Nöhle hineinhängt, um schließlich vereinzelt oder in kleineren Gruppen abzutropfen. Die Zellen nehmen erst später in größerer Zahl Kontakt zueinander auf und bilden so das Entoderm.

Diese Zellschicht, jetzt Hypoblast genannt, wird dann durch die Ausbildung des Kopffortsatzes und der mesodermalen Strukturen, vom Hensenschen Knoten und Primitivstreifen ausgehend, vom Ektoderm abgedrängt.

Inwieweit jetzt der Kopffortsatz mit der frühen Entodermis verschmilzt und Zellen zum Aufbau dieser Schicht zur Verfügung stellt, ist nicht sicher

bekannt. Der axiale Abschnitt des Entoderms beteiligt sich aber an der Bildung der Chorda, so daß viele Autoren die Rückenseite als entodermalen Abkömmling betrachten ( Disse, 1878; Fraser, 1954 ).

Nach Abschluß der Chordabildung und nach Konstitution der klassischen mesodermalen Primitivorgane stellt sich das Entoderm als flache einschichtige Zelllage, die auf dem Dotter schwimmt, dar. Durch Faltungserscheinungen sowohl von cranial und caudal als auch von lateral her wird diese Platte zu einer Röhre umgeformt, die schließlich nur noch durch einen engen Gang mit dem übrigen Dottersack in Verbindung steht. Stellenweise bleibt sie noch in Form eines Mesos durch solide Epithelstränge mit der keimnahen Wand des Dottersacks verbunden. Nach Schluß auch dieser Verbindung übernehmen Gefäße die Versorgung des Embryos vom Dottersack her. An diesem relativ einheitlichen Epithelrohr spielen sich nun in der Folge eine Fülle von Proliferations-, Ausstülpungs- und schließlich auch Einschmelzungserscheinungen ab. Sieht man von der Entwicklung des Kiemendarms ab, der eine außerordentlich heterogene prospektive Potenz besitzt, so sind im übrigen Darmabschnitt im wesentlichen zu berücksichtigen

- 1) die Gliederung in Oesophagus-Magen-Darm
- 2) das Auswachsen der Lunge, der Leber, des Pankreas.

Diese Vorgänge sind im lichtmikroskopischen Bereich bereits eingehend und erschöpfend von den klassischen Embryologen beschrieben worden :

- ad 1) Lillie, 1940; Patten, 1951; Rudnick, 1952; Ivey und Edgar, 1952; Bellairs, 1953; Le Douarin, 1964; Rosenquist, 1966; Stalsberg und De Haan, 1968
- ad 2) Lunge: Remak, 1855; Götte, 1867; His, 1868; Seessel, 1877; Flint, 1906; Locy und Larsell, 1916; von Baer, 1828
- Leber: Götte, 1867; Shore, 1891; Felix, 1892; Hammar, 1893 und 1897; Brouha, 1898;

Hildebrandt, 1903; Le Douarin, 1964  
Pankreas: Felix, 1892; Rawles, 1936; Rudnick und  
Rawles, 1937; Hunt, 1937; Dieterlen- Li-  
èvre, 1965; Wessells und Cohen, 1967.

Das Entoderm stellt also aufgrund der geschilder-  
ten Entwicklungsvorgänge für das Studium zytologi-  
scher Differenzierungsmechanismen ein außerordentlich  
interessantes Objekt dar. Durchläuft doch dieses  
Keimblatt in dem geschilderten Entwicklungsabschnitt  
mehrere abgegrenzte Differenzierungsstadien. Ein der-  
artiges Verhalten ist besonders für die elektronen-  
mikroskopische Untersuchung von Differenzierungsvor-  
gängen von großem Vorteil. Diese morphologischen  
Methoden konnten aufgrund ihres hohen Auflösungsver-  
mögens und ihrer sonstigen präparatorischen Vorteile  
die Lücke schließen helfen, die zwischen dem Beginn  
der Differenzierung auf molekularer Ebene und den  
morphologisch faßbaren Differenzierungszeichen liegt.  
Zweifellos muß doch angenommen werden, daß am Beginn  
jeder Differenzierung die morphologisch noch nicht  
sicher erfaßbare Translation des genetischen Codes  
steht, also die matrizenartige Reduplikation von RNS  
und die anschließende Bildung von spezifischen Prote-  
inen. Erst diese Proteine können als Enzym- oder  
Struktureiweiß morphologisch darstellbare Elemente  
bilden. Bis jetzt liegen in dieser Richtung erst we-  
nige elektronenmikroskopische Arbeiten vor (Wessells  
und Evans, 1968; Noack, 1969). Sasse (1969) fand bei  
histochemischen Untersuchungen embryonaler Prolife-  
rations- und Differenzierungsschritte des Verdauungs-  
traktes einen immer wiederkehrenden Ablauf von Glyko-  
genolyse, Anstieg der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase-  
aktivität als kennzeichnendes Enzym des Pentosephos-  
phatzyklus und Zunahme der RNS-Konzentration und  
hält die daraus resultierende Möglichkeit zur frühen  
vormorphologischen Erfassung von Proliferations- und  
Differenzierungsschritten für außerordentlich nützlich

Zusammenfassend lassen sich diese Resultate folgendermaßen interpretieren: Die völlig undifferenzierte Zelle mit einer hohen Proliferationsaktivität, wie sie auch in embryonalem Gewebe häufig vorkommt, zeichnet sich durch eine große Kern-Plasma-Relation, eine geringe Zahl von Zellorganellen, eine außerordentlich große Zahl von freien Ribosomen und ein schlechtes Adhäsionsvermögen aus. Dieses Bild bestätigt unsere Vorstellung von der Bedeutung der freien Ribosomen für die Zellneubildung. Hier werden die Eiweiße synthetisiert, die in der Zelle verbleiben. In Analogie zu diesen Vorstellungen findet man deshalb auch viele freie Ribosomen in den Zellen, die am Beginn einer speziellen Differenzierung stehen. Denn auch hier müssen zur Bildung der typischen Strukturen, z.B. der Membransysteme, der metaplastischen Substanzen und der Enzymsysteme, entsprechende zelleigene Eiweiße gebildet werden. Die differenzierte Zelle schließlich ist morphologisch gekennzeichnet durch den Gehalt an typischen Organellen und metaplastischen Substanzen( Birbeck und Mercer, 1961).

Es liegt nahe, die frühzeitige Erfassung von Differenzierungen elektronenmikroskopisch zu versuchen. Hier liegen aber noch keine verwertbaren Ergebnisse über die frühe Entodermentwicklung des Hühnchens vor. Unseres Wissens haben sich mit der frühen Differenzierung des Entodermrohres elektronenmikroskopisch nur Bellairs et al.(1967), Wessells und Evans (1968) und Noack (1969) beschäftigt. Diese Autoren berücksichtigen jedoch im wesentlichen nur die frühen Stadien und das Problem der Motilität und Knospung bei der Bildung von Pankreas und Leber.

Wir untersuchten deshalb aus folgenden Gründen die Entwicklung des Entoderms des Hühnchens vom Stadium des Hypoblasten bis zur Ausbildung von Lungen-, Leber- und Pankreasknospung:

- 1) zur elektronenmikroskopischen Darstellung und

Beschreibung dieser frühen Entodermentwicklung, die bis jetzt noch in der Literatur fehlt

- 2) zur frühestmöglichen morphologischen Erfassung der Differenzierungsvorgänge bei den geschilderten Veränderungen der Differenzierungsrichtung
- 3) zur Schaffung von morphologischen Grundlagen für die Testung teratogen wirkender Substanzen im Rahmen des Sonderforschungsbereiches Embryonalpharmakologie.

## Material und Methoden

Das Material stammt von einem Berliner Weißen Leghornstamm. Seine Befruchtungs- und Schlüpfungsrate liegt außerordentlich hoch und blieb, wie wir uns überzeugen konnten, bereits über Jahre gleichmäßig. Bis etwa zum vierten Tag der Inkubation wurde die Fixierung folgendermaßen durchgeführt: Mit einer feinen Kreissäge (8 mm Durchmesser), angeschlossen an einen Zahnarztbohrer, wurde ein viereckiges Stück der Eischale ausgesägt und vorsichtig abgehoben. In die Öffnung konnte jetzt eine Pipette eingeführt werden, mit der über eine Wasserstrahlpumpe ein Teil des Eiweißes abgesaugt wurde. Danach sieht man die Keimscheibe übersichtlich auf dem Dotter liegen. Die entstandene Höhlung konnte jetzt mit Fixierungsmittel aufgefüllt werden. Es erfolgte also eine typische in situ-Fixierung.

Nach dem vierten Inkubationstag mußten die Embryonen in toto entnommen, unter der Präparierlupe die entsprechenden Stücke freigelegt und dann erst in Fixierungsmittel eingebracht werden. Die Fixierungslösung bestand aus 2%igem Glutaraldehyd in 0,1molarem Phosphatpuffer (ph=7,4). In dieser Lösung verblieben die Objekte für zwei Stunden und wurden dann nach dem Waschen in Pufferlösung erneut mit 1%iger OsO<sub>4</sub>-Lösung in 0,1 molarem Phosphatpuffer (ph=7,4) für eine Stunde nachfixiert.

Nach der Entwässerung in der Acetonreihe erfolgte die Einbettung in Mikropal. Die Schnitte wurden an LKB-, Servall- und Reichert- Mikrotomen hergestellt. Als Kontrastierungsmittel kamen Lösungen von Uranylacetat und Bleicitrat zur Anwendung. Die Aufnahmen wurden an Siemens- Elmiskopen I;Ia hergestellt mit einer Primärvergrößerung von 1500- 40000 bei einer Strahlspannung von 80 kV (Blenden 200/50 $\mu$ ). Die Auswertung erfolgte auf 3 1/2 fachen Papiervergrößerungen (Positiven).

Zur Orientierung im Schnitt ist es besonders bei embryologischen Untersuchungen unbedingt erforderlich, lichtmikroskopische Kontrollen voranzuschicken. Zu diesem Zweck können mit den oben erwähnten Mikrotomen  $1/2 - 1/4$  dicke Schnitte hergestellt werden, die nach Färbung mit 1 %iger wässriger Giemsa-Lösung mit Boraxzusatz ( $60^{\circ}\text{C}$ , 1 min) im Lichtmikroskop gut zu beurteilen sind.

## Befunde

In Analogie zu den Befunden von Noach (1969) stellen sich die Zellen des gerade erst gebildeten Hypoblasten, d.h. der frühesten Entodermanlage, etwa folgendermaßen dar:

Sie sind unterschiedlich groß und vorwiegend rund bis polygonal. Einzelne kleine fingerförmige Fortsätze und Leisten können der Oberfläche aufsitzen und sich mit Nachbarzellen verzahnen. Eine Parallelagerung im Sinne eines einschichtigen Epithels ist angedeutet vorhanden. Die Zellen dieses frühen Entoderms der unbebrüteten oder kurzzeitig bebrüteten Keimscheibe zeichnen sich noch durch eine große Zahl von Dottereinschlüssen aus, die jedoch alle Stadien der Einsmelzung zeigen können. Einzelne Zonulae occludentes kommen vor. An diesen Stellen, die auch Tight junctions, Nexus oder Schlußleistennetz genannt werden, nähern sich die äußeren Lamellen der Zellmembran und verschmelzen schließlich. An diesen Stellen ist also ein echter interzellulärer Raum nicht mehr vorhanden.

24 Stunden später hat sich das Bild grundlegend gewandelt. Neben einer deutlich abgegrenzten ektodermalen und entodermalen Schicht finden wir jetzt schon dazwischen liegende und beide Schichten auseinanderdrängende mesodermale Strukturen und prämesodermale Mesenchym. Das Entoderm selbst hat sich in dieser kurzen Zeit stark abgeplattet. Es besteht jetzt aus einer einschichtigen Lage flacher Zellen, die ihre dickste und breiteste Stelle im Kernbereich aufweisen. Hier lassen sich Dicken von durchschnittlich 6 <sup>µm</sup> messen. Diese Zellform mit dem etwas vorbuckelnden Kern und dem flacher werdenden peripheren Cytoplasma erinnert an das Peritonealepithel oder das Endothel. Trotz der geringen Breite dieser Schicht wird aber dennoch eine kontinuierliche Barriere zwischen Körperinnenraum und Dottersack gebildet. An den Berüh-

rungsstellen benachbarter Zellen verzahnen sich Fortsätze, so daß mitunter sogar mänderförmige Muster entstehen. Tight junctions sind, meist zum Dotterraum hin gelegen, immer vorhanden. Die Verzahnungen kommen häufig in zwei Etagen vor: die eine mehr apikal, d.h. zum Dotter hin, die andere mehr basal gelegen. Dazwischen weichen die Zellmembranen auseinander, und es entstehen dadurch weite Interzellularräume mit einem Durchmesser bis zu  $6\mu$ . Der Verlauf der Zellmembran zum Dotter hin kann stellenweise relativ geradlinig sein. Typischerweise findet man jedoch unregelmäßig verteilt kleine, fast stummelförmige Mikrovilli. Auch zum mesenchymalen Raum hin kommt auf langen Strecken ein geradliniger Verlauf vor. Es können jedoch auch hier Mikrovilli und plumpe Fortsätze in den Interzellularraum hineinragen. Eine Basalmembran beginnt sich erst nach einer Bebrütungsdauer von 60 Stunden deutlich auszuprägen. Im Cytoplasma kommen zahlreiche gruppierte freie Ribosomen vor, die sogenannten Polysomen. Daneben finden sich noch einzelne Hohlräume des rauhen ER, einige langgestreckte Mitochondrien vom Cristaetyp und einzelne homogene Einschlüsse mittlerer Elektronendichte, die sogenannten Lipidtropfen. Erstaunlicherweise sind zu dieser Zeit keine Dottereinschlüsse, Abbauförmungen der Dottereinschlüsse oder Restkörper mehr nachzuweisen. In der Zeit davor, besonders aber bis zu einer Bebrütungsdauer von 12 Stunden, lassen sich solche Abbauvorgänge gerade im Entoderm deutlich darstellen. Vom typischen Dottereinschluß, der rund bis polygonal geformt ist und in einer homogen-dichten Matrix ein dunkles Zentrum enthält, führt der Weg über ein Abschmelzen der helleren Peripherie und eine Auflösung des Zentrums bis schließlich zu mehr oder weniger großen optisch fast leeren Vakuolen. Eine Membranbegrenzung ist während dieser Zeit immer nachzuweisen. Die finalen Vakuolen schrumpfen oder zerfallen

in kleinere Einheiten. Mit dem Abflachen, d.h. nach 24 Stunden, sind sie, wie oben bereits beschrieben, völlig verschwunden. Dieses Bild ändert sich erst dann wieder, wenn die Faltungsvorgänge zur Separierung des Entodermrohres von der Dottersackhöhle einsetzen. Jetzt nehmen die Zellen wieder ständig an Höhe zu, besonders im Bereich des späteren Entodermrohres. Mit dieser Veränderung geht eine außerordentlich starke proliferative Aktivität des Entodermepithels einher. Bereits im Elektronenmikroskop sind zahlreiche Mitosen nachweisbar, obwohl diese Methode wegen der geringen Dicke und Größe des Schnittes sich zur Erfassung der Mitoseaktivität nur schlecht eignet. Interessante morphologische Veränderungen der Feinstruktur spielen sich dann in der Nähe des Nabels ab. Hier entsteht zunächst eine mesoähnliche Epithelstruktur durch eine Aneinanderlegung des Entoderms beider Seiten bei der Abfaltung des Darmrohres, die Darmrohr und Dottersackepithel noch eine kurze Zeit (12 Stunden) verbindet. Schon bevor sich die beiden Zellschichten berühren, treten in ihrem Cytoplasma zahlreiche bis zu  $0,1\mu$  große membranbegrenzte Einschlüsse auf, die einen annähernd homogenen elektronendichten Inhalt haben. Gleichzeitig vergrößert sich der Golgiapparat. Die Profile der parallel gepackten Säcke werden länger, und die Zahl der peripheren Vesikel und Granula nimmt deutlich zu. In dieser Zeit wird auch schon die basale Abgrenzung zum Bindegewebe hin bei dieser meso-ähnlichen Epithelplatte unregelmäßiger. Die Basalmembran reißt ein, und die Zellen ragen mit mehr oder weniger großen Fortsätzen in das Bindegewebe hinein. Nach dem festen Aneinanderlegen der beiden Epithelschichten verschwindet die Basalmembran völlig. Die Grenze zum Bindegewebe hin wird dadurch unscharf, zumal sich viele Epithelzellen offenbar frein diesen Raum hineinbewegen. Das ist nicht zuletzt möglich durch die

Lockerung der Zellhaftung im Epithel. Verzahnungen und Tight junctions verschwinden weitgehend. Zwischen den Zellen bilden sich weite Interzellularräume. Aufgrund dieser Lockerung des Zellverbandes lassen sich bald die ursprünglichen beiden Epithelschichten nicht mehr sicher auseinanderhalten und auch die Abgrenzung zum Bindegewebe hin wird undeutlich. In den Zellen spielen sich während dieser Zeit zahlreiche Abbauvorgänge ab. Aus der Fülle der beobachteten Einschlüsse und mit Hilfe der bereits veröffentlichten Befunde an anderen Geweben läßt sich aus den zahlreichen Einzelbildern eine dynamische Sequenz konstruieren. Zunächst entstehen aus vorgeformten Vesikeln und vorhandenen Membranen des ER um bestimmte Zytoplasmaareale, die die verschiedensten Zellelemente enthalten können, kontinuierliche Membranhüllungen. In diese neugeformten Vakuolen werden die bereits vorhandenen kleinen elektronendichten Granula ausgeschüttet. Die in ihnen enthaltenen lytischen Enzyme beginnen jetzt mit dem Abbau der intravakuolären Strukturen. Es resultieren in Abhängigkeit vom vorhandenen Substrat- und Enzymspektrum polymorphe Abbauformen, in denen man noch eine Zeitlang die ursprünglichen Zytoplasmastrukturen erkennen kann. Bald darauf überwiegen aber grobgranuläre Formen, Myelinfiguren, Einzelmembranen oder aufgehellte Zonen ohne Inhalt. Das Endprodukt scheint ein Substratverlust in den Vakuolen, also eine Aufhellung bzw ein granuläres Material zu sein. Die Einschlüsse nehmen an Zahl und Größe außerordentlich zu. Es können Zellen beobachtet werden, die entweder einzelne Einschlüsse enthalten, die größer sind als der Kern oder vollgestopft sind mit zahlreichen kleineren. In diese Epithelstränge ohne feste Grenze zum Bindegewebe hin drängen sich jetzt mesenchymale Zellelemente. Das endgültige Schicksal der Epithelzellen an der Berührungsstelle zweier Entodermschichten ist nur schwer darzustellen. Offenbar laufen diese Vorgänge

doch sehr schnell ab. Einzelne Befunde lassen vermuten, daß die mit Abbaueinschlüssen vollgestopften Zellen zerfallen. Diese Fragmente oder aber ganze Zellen werden dann von den mesenchymalen Zellen phagozytiert und endgültig eingeschmolzen. In manchen Embryonen desselben Stadiums oder kurze Zeit später sind jedenfalls an diesen Stellen keinerlei Hinweise für die beschriebenen Vorgänge mehr vorhanden. Nach unseren Erfahrungen spielen sich ähnliche Vorgänge in der Herzanlage ab, wo die beiden Rohre schließlich zu einem einheitlichen Rohr verschmelzen. Erfahrungsgemäß ist aber das Gewebe an dieser Stelle während der Faltung nicht zu einem kubischen oder sogar zylindrischen Epithel herangewachsen, sondern hat eine flache Gestalt beibehalten. So sind die Abbauvorgänge nur in geringem Maße ausgeprägt. Immerhin kann das sich auflösende Gewebe bei der Beurteilung der Herzentwicklung verwirrend auf den Betrachter wirken. Diese Vorgänge, d.h. die begrenzte mesoartige Verbindung des Mesodermrohres mit dem Dottersack und die Einschmelzung dieser Epithelverbindung muß bei der Deutung von histologischen und elektronenmikroskopischen Schnitten von diesen Stellen immer berücksichtigt werden. Aus dem Entoderm sind jetzt zwei einschichtige Epithelverbände hervorgegangen, die nur noch für kurze Zeit in der Nabelgegend miteinander in Verbindung stehen bzw. ineinander übergehen: das Dottersackepithel und das Entodermrohr. Das Dottersackentoderm bleibt ein flaches bis kubisches relativ regelmäßig gebautes einschichtiges Epithel. Es ähnelt damit dem am Anfang beschriebenen Entoderm nach 24 Stunden Bebrütung. Ein Unterschied besteht allerdings in den apikalen, d.h. dem Dotter zugekehrten Abschnitten der Zellen. Hier findet man eine sehr unterschiedlich verlaufende Zellmembran mit zahlreichen Fortsätzen und Mikrovilli wechselnder Länge und Breite sowie Vesikulationsvorgänge. Im Vergleich mit den primären Entodermzellen ist jedoch der Golgiapparat größer, und es finden sich Hohlraumssysteme des rauen ER und

dunkle Einschlüßkörper. Diese Einschlüsse dürften Phagolysosomen darstellen, also Dotterbestandteile, die in diesen Zellen abgebaut werden. Der Verlauf der basalen Zellmembran ist relativ glatt. Die lateralen Zellmembranen haben durch Tight junctions, Desmosomen und Verzahnungen Kontakt miteinander. Eine typische Basalmembran ist deutlich darstellbar. Die Morphologie der Zellen des Entodermrohres unterscheidet sich von diesem Bilde beträchtlich. Es handelt sich um ein hochprismatisches stellenweise sogar mehrreihiges Epithel. Die basale Zellmembran wölbt sich teilweise in Form plumper Fortsätze in das darunter liegende Mesenchym vor. Örtlich unterschiedlich bildet sich dann aber auf weite Strecken eine deutliche Basalmembran aus, und der Verlauf der basalen Zellmembran wird relativ glatt. Apikal wölben sich mehr oder weniger ausgeprägt, vereinzelt sogar blasenartig, die Zellapices in das Lumen des Entodermrohres vor. Darüber hinaus können noch einzelne kurze und unregelmäßig verteilte Mikrovilli von der apikalen Zellmembran ausgehen. Die Entodermzellen stoßen fast ohne Interzellularräume, die man nur vereinzelt nachweisen kann, bei parallel verlaufenden Zellmembranen aneinander. Die Breite des Interzellularraumes beträgt typischerweise 200 Å. Einzelne Verzahnungen kommen vor. Im apikalen Zellbereich, dort, wo die Zellmembranen benachbarter Zellen sich zuerst berühren, imponiert die kontinuierliche Zonula occludens (Tight junctions). Auch hier fließen unter Verlust des Interzellularraumes die äußeren Lamellen der Zellmembran zusammen. Gleichzeitig verdichtet sich das anliegende Zytoplasma. Lichtmikroskopisch sind diese Bereiche als Schlußleistennetz darzustellen. Desmosomen konnten wir bis zu diesem Zeitpunkt (bis ca 60 Stunden Bebrütung) nur vereinzelt nachweisen. Im Zytoplasma dieser Zylinderzellen des Entoderms kommt eine Struktur vor, die charakteristisch ist: runde bis leicht gezackte einzeln oder gruppiert liegende

Einschlüsse mit einem homogenen Inhalt von mittlerer Elektronendichte und einer peripheren Verdichtung. Diese Einschlüsse entsprechen damit morphologisch den in vielen anderen Organen beschriebenen Lipid-tropfen. Ihr Vorkommen hat uns bereits häufig die Identifizierung des Entodermrohres und die Orientierung im elektronenmikroskopischen Schnitt ermöglicht, die gerade in embryonalen Geweben wegen der Kleinheit der Präparate, der geringen Dicke der Schnitte und der wechselnden Anschnittswinkel außerordentlich schwierig sein kann. Die übrigen Zellorganellen bieten keine auffälligen Besonderheiten. Wir finden einen großen Kern, der bei rund-ovaler Form glatte Konturen hat. Der Nukleolus ist besonders groß und aufgelockert. Die klassischen Nukleonemata sind deutlich darzustellen. Vereinzelt kommen in einer Schnittebene zwei Nukleoli zur Beobachtung. Die Mitochondrien sind vom Cristaetyp und zeigen alle Übergänge von einer runden bis langgestreckten Form. Die Cristae können jedoch einen außerordentlich unregelmäßigen Verlauf haben. So finden sich Partikel, bei denen sie von allen Seiten in die Matrix hineinragen; in anderen dagegen weisen sie eine deutliche Vorzugsrichtung auf. Häufig entstehen auch cristaefreie Räume. Daneben kommen noch kurze bis mittellange Hohlräume des rauhen ER, ein mittelgroßer, meist apikal gelegener Golgiapparat und Vesikel vor. In diesen Zellorganellen überwiegen wiederum die freien Ribosomen, die zumeist als gruppierte Polysomen anzusprechen sind. Diese Beschreibung gilt bis zum Zeitpunkt der Ausstülpung von Leber- und Pankreashörnern, also bis zu einer Bebrütungsdauer von etwa 50 Stunden. Diese folgende Entwicklung, die erneut mit morphologischen Veränderungen einhergeht, soll hier nicht mehr berücksichtigt werden.

## Diskussion

Die elektronenmikroskopische Untersuchung des Entoderms vom Hypoblastenstadium bis zum Beginn der Ausstülpung von Anhangsorganen (Leber, Pankreas) ergibt ein erstaunlich wechselndes Bild. Die Entwicklung beginnt mit den unregelmäßig großen, polymorphen Hypoblastenzellen, die noch zahlreiche Dottereinschlüsse enthalten und alle Stadien des lysosomalen Dotterabbaus zeigen. Während sich die mesodermalen Strukturen entwickeln, flachen die Entodermzellen ab, und die Dottereinschlüsse gehen verloren. Bei Beginn der Faltungsvorgänge strecken sich die Zellen und werden schließlich zylindrisch. An der Abschnürungsstelle des Entodermrohres vom Dottersack finden sich alle Formen des Zellabbaus mit entsprechenden mesenchymalen Reaktionen. Die typischen Entodermzellen dieser Zeit zeichnen sich durch homogene Einschlüsse mittlerer Elektronendichte aus, die in Analogie zu entsprechenden Strukturen in anderen Geweben als Fetttropfen bezeichnet werden müssen. Während der gesamten Entwicklung sind die Zellen des Entoderms verknüpft durch besondere Kontaktstellen (Zonulae occludentes). Das Vorkommen dieser Kontaktzonen in der entodermalen Schicht weist darauf hin, daß zwischen Dottersackinhalt und embryonalem Gewebe immer eine zelluläre Schicht eingeschaltet ist. Der IZR dieses einschichtigen Epithels ist abgedichtet, so daß jeglicher Transport vom Dottersack zum Embryo und umgekehrt anfänglich über die Entodermzellen laufen muß (Farquar und Palade, 1963; Bullivant und Ames, 1966; Merker, 1969). Neben dieser abdichtenden Funktion haben aber diese Kontaktstellen noch die Fähigkeit, Ionen und andere kleinmolekulare Substanzen von Zelle zu Zelle passieren zu lassen (Brightman und Reese, 1969; Bullivant und Loewenstein, 1968). Innerhalb des entodermalen Zellverbandes ist also eine ungehinderte Kommunikation und ein freier Ionen-transportfluß zumindest für kleinere Moleküle möglich.

Es kann angenommen werden, daß dadurch einheitliche und synchrone Funktionsleistungen und gleichmäßige Differenzierungsvorgänge erreicht werden. Obwohl gerade die Elektronenmikroskopie die Richtigkeit des Schwannschen und Virchow'schen Zellbegriffes bewiesen hat, können darüber hinaus sogenannte funktionelle Synzytien postuliert werden, die bei Differenzierungsvorgängen und der Erregungsleitung eine wichtige Rolle spielen. Nach dieser Vorstellung kann die Entodermis vor Beginn der Einstülpung zum Entodermrohr als zusammenhängender Gewebsverband betrachtet werden. Einen erstaunlichen Befund stellt zweifellos die Abflachung der Zellen des Dottersacks dar, während sich die mesodermalen Strukturen zwischen Epi- und Hypoblast entwickeln. In dieser Zeit ist noch kein voll funktionsfähiger Blutkreislauf vorhanden. Der Keim muß vom Dottersack versorgt werden. Da in dem abgeflachten Entoderm kein lysosomales System elektronenmikroskopisch nachgewiesen werden kann, muß angenommen werden, daß genügend Substanzen im Dottersack vorhanden sind, die ohne Vermittlung dieses lysosomalen Systems das embryonale Gewebe erreichen und als Nahrungstoffe dienen können. Diese Ernährungsweise würde sich aber deutlich von der bis dahin benutzten unterscheiden. Bisher wurden weitgehend die phagozytierten Dottereinschlüsse mittels des lysosomalen Systems intrazellulär eingeschmolzen (Novikoff und Quintana, 1964; Merker, 1964; De Duve, 1959 und 1963; De Duve und Wattiaux, 1966). Das lysosomale System spielt während der Bildung der entodermalen Strukturen noch an einer anderen Stelle eine wesentliche Rolle. Überall dort, wo sich das Entodermrohr vom Dottersack abschnürt, besteht noch für kurze Zeit eine solide epitheliale Verbindung zwischen beiden Hohlräumen. Diese Verbindungsstränge werden dann aufgelöst und abgeräumt. Aufgrund der geschilderten Befunde kann man daher folgende Sequenz der Ereignisse vermuten: Die Zellen der Ver-

bindungsstränge, aus ihren normalen Funktionen herausgerissen, werden zur Aktivierung ihres lysosomalen Systems induziert. Sie schmelzen große Bereiche ihres Zytoplasmas ein. Ein Teil dieser Zellen geht zweifellos durch Einwirkung solcher lysosomaler Enzyme zugrunde. Die Folge ist ein Einwandern mesenchymaler Freizellen, die die Epithelreste phagozytieren und abbauen.

Es kann kein Zweifel bestehen, daß eine Störung dieses lysosomalen Systems zu Mißbildungen im Sinne von Abschnürungsstörungen des Entoderms führen kann. Ebenso führen ja auch Hemmungen der lysosomalen Aktivität im Dottersackepithel zu Utilisationsstörungen des Dotters in den frühen Phasen. Diese Formen der Entwicklungsstörungen gewinnen zunehmend an Interesse und sollten zur Erklärung von Mißbildungen berücksichtigt werden (Glucksmann, 1951; De Duve, 1959 und 1963; Wattaux, 1966; Schweichel, 1970).

Interessant bleibt in diesem Zusammenhang das Phänomen der Zellabflachung. Während dieser Zeit umwächst das Entoderm zur Bildung des Dottersacks den Dotter. Ungeklärt ist bislang noch, ob Proliferationsvorgänge im Bereich der Keimscheibe und Zellwanderungen aus diesem Gebiet heraus oder aber Segmentierungen des ursprünglich vorhandenen Zytoplasmas die ausschlaggebende Rolle spielen. Die Abflachung der Zellen spricht aber in Analogie zu Vorgängen in der Gewebekultur für ein Auswandern der Zellen, ausgehend vom Keimbereich.

Die folgende Längenzunahme der Zellen, die das Entodermrohr während und nach der Abflachung auskleiden, kann mit zwei Vorgängen erklärt werden: Zweifellos stellt die Abflachung mit der Schaffung eines besonderen internen Milieus einen Umweltreiz dar, der derartige Polarisierungen von einschichtigen Epithelverbänden möglich machen könnte. Es könnte sich aber auch um einen genetisch bedingten Vorgang handeln.

Das würde bedeuten, daß zu diesem Zeitpunkt eine Differenzierung der Zellen eintritt, die sich

auch an der Zellform ablesen läßt: die Entwicklung von hochprismatischem oder zylindrischem Epithel, das ja kennzeichnend auch für die endgültigen Stadien des Darmepithels ist. Ein Hinweis auf die letzte Möglichkeit, d.h. auf die differenzierungsbedingte Umformung der Epithelzellen, könnten die für diese Zellart charakteristischen Fetttropfen sein. Ihr Auftreten spricht weniger für eine Zellschädigung in diesem embryonalen Gewebe, als eher für die Fähigkeit dieser Zellen, Fett synthetisieren und stapeln zu können. Diese Eigenschaften besitzt auch noch die Leber des erwachsenen Organismus, das größte Derivat des Entodermrohres.

## Zusammenfassung

Wir versuchten, elektronenmikroskopisch die mikromorphologischen Veränderungen der Hypoblastenzellen auf dem Wege zu den parenchymatösen Organen Leber, Lunge und Pankreas bis zu einer Bebrütungsdauer von etwa 50 Stunden zu verfolgen und damit die Lücke zwischen den biochemisch-histochemisch und lichtmikroskopisch faßbaren Vorgängen schließen zu helfen.

Das untersuchte Material (Berliner Weißer Leghornstamm) wurde mit Glutaraldehyd fixiert und mit  $\text{OsO}_4$  nachfixiert bei einem mit Phosphatpuffer eingestellten pH von 7,4. Nach Entwässerung in der Azetonreihe und Mikropaleinbettung erfolgten die Schnitte an LKB-, Servall- und Reichert-Mikrotomen, die nach Kontrastierung mit Uranylazetat und Bleiazetat mit Siemenselmiskopen I, Ia photographiert und als Papiervergrößerung ausgewertet wurden.

Nach der Delamination stellen sich die Hypoblastenzellen vorwiegend als runde bis polygonale Zellen mit viel Dottereinschlüssen dar, die alle Stufen des Abbaus zeigen und bis zu einer Bebrütungszeit von etwa 12 Stunden nachzuweisen sind. Einige Zellen sind über kleine Fortsätze mit Nachbarzellen verzahnt; andere bereits über Zonulae occludentes miteinander verschmolzen, wobei sich eine Parallelstellung der Zellen bereits andeutet.

Schon 24 Stunden später sehen wir ein ganz anderes Bild mit deutlich abgrenzbarem Ektoderm, mesodermalen Strukturen und Entoderm. Die Entodermzellen bilden eine einschichtige Lage abgeflachter Zellen ohne jeden Dottergehalt, mit regelmäßigen Tight junctions, stummelförmigen Mikrovilli und zahlreichen Gruppen von Polysomen im Zytoplasma, das auch vereinzelt rauhes ER, Mitochondrien vom Cristaetyp und Lipidtropfen enthält.

Erst mit Beginn der Faltungsvorgänge zur Trennung von Entoderm und Dottersackhöhle ändert sich das Zellbild wieder. Die Zellen nehmen an

Höhe zu und zeigen eine große Teilungsaktivität. Der Verbindungsstrang zwischen Dottersackepithel und Entodermrohrepithel wird durch Aktivierung des lysosomalen Systems und Phagozytose der umliegenden Mesenchymzellen eingeschmolzen. Am Ende dieser Umwandlungsprozedur resultiert eine Trennung in Dottersackepithel und Entodermrohr. Die Zellen des Dottersackepithels sind flach bis kubisch, einschichtig und weisen viele Mikrovilli und Vesikel auf der zum Dotter liegenden Seite auf. Daneben finden sich ein relativ großer Golgiapparat, rauhes ER und dunkle Einschlusskörper. Die Zellverzahnung verläuft über Tight junctions, Desmosomen und Zellausläufer. Eine Basalmembran ist deutlich ausgebildet.

Im Gegensatz hierzu imponieren die Entodermzellen als hochprismatisches, zum Teil mehrreihiges Epithel. Die Zellverzahnungen erfolgen über Tight junctions. Desmosomen und Mikrovilli sind spärlich. Als typische Einschlüsse findet man Lipidtropfen.

## Literatur

- von Baer, K.E.: Über die Entwicklungsgeschichte der  
Thiere. Königsberg (1828)
- Baker, P.C.: Fine structure and morphogenic movements  
in the gastrula of the treefrog *Hyla Regilla*.  
*J. Cell Biol.*, 24, 95-116 (1965)
- Balfour, F.M. und Deighton, F.: A renewed study of the  
germinal layers of the chick.  
*Quart. J. micr. Sci.*, 22, 176-188 (1882)
- Bellairs, R.: Studies on the development of the foregut  
in the chick blastoderm. I.: The presumptive  
foregut area.  
*J. Embryol. exptl. Morphol.*, 1, 115-124 (1953a)
- Studies on the development of the foregut.  
II.: The morphogenetic movements.  
*J. Embryol. exptl. Morphol.*, 1, 369-385 (1953b)
- Studies on the development of the foregut  
in the chick. III.: The role of mitosis.  
*J. Embryol. exptl. Morphol.*, 3, 242-250 (1955)
- Bellairs, R., Bromham, D.R. und Wylie, C.C.: The influ-  
ence of the area opaca on the development  
of the young embryo.  
*J. Embryol. exptl. Morphol.*, 17, 195-212 (1967)
- Birbeck, M.C.S. und Mercer, E.H.: Cytology of cells  
which synthesize protein.  
*Nature*, 189, 558-559 (1961)
- Brightman, M.W. und Reese, T.S.: Junctions between  
intimately apposed cell membranes in the  
vertebrate brain.  
*J. Cell Biol.*, 40, 648-677 (1969)

Brouha, M.: Recherches sur le développement du foie, du pancréas, de la cloison mesentérique et des cavités hépato-entériques chez les oiseaux.

J. de l'anat. et de la physiol., 34, 305-363 (1898)

Bullivant, S. und Ames, A.: A simple freeze-fracture replikation method for electron microscopy.

J. Cell Biol., 29, 435-447 (1966)

Bullivant, S. und Loewenstein, W.R.: Structure of coupled and uncoupled cell junctions.

J. Cell Biol., 37, 621-632 (1968)

Dieterlen-Lièvre, F.: Étude morphologique et expérimentale de la différenciation du pancréas chez l'embryon de poulet.

Bull. Biol. France Belg., 99, 3-116 (1965)

Disse, J.: Die Entwicklung des mittleren Keimblattes im Hühnerei.

Arch. mikr. Anat., 15, 67-94 (1878)

Le Douarin, N.: Induction de l'endoderme pré-hépatique par le mésoderme de l'aire cardiaque chez l'embryon de poulet.

J. Embryol. exptl. Morphol., 12, 651-664 (1964)

- Étude expérimentale de l'organogenèse du tube digestif et du foie chez l'embryon de poulet.

Bull. Biol. France Belg., 98, 543-583 (1964)

- Duval, M.: De la formation du blastoderme dans l'oeuf d'oiseau.  
Ann. Sci. Nat., 18, 1-208 (1884)
- Atlas d'embryologie.  
Paris (1888)
- De Duve, D.: Lysosomes, a new group of cytoplasmic particles. In: Subcellular particles (T. Hayashi, ed.), pp. 128-159. New York: The Ronald Press Co. (1959)
- The lysosome concept. In: Lysosomes (Renk und Cameron, ed.). London: Churchill (1963)
- De Duve, D. und Wattaux, R.: Function of lysosomes.  
Ann. Rev. Physiol., 28, 435-458 (1966)
- Farquar, M.G. und Palade, G.E.: Junctional complexes in various epithelia.  
J. Cell Biol., 17, 375-412 (1963)
- Felix, W.: Zur Leber- und Pankreasentwicklung.  
Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt. f. 1892, S. 281-323
- Flint, J.M.: The development of the lungs.  
Am. J. Anat. 6 (1906)
- Fraser, R.C.: Studies on the hypoblast of the young chick embryo.  
J. exptl. Zool., 126, 349-400 (1954)
- Glucksmann, A.: Cell deaths in normal vertebrate ontogeny.  
Biol. Rev., 26, 59-86 (1951)
- Götte, A.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Darmkanals im Hühnchen.  
Tübingen (1867)

- Götte, A.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Wirbelthiere. II.: Die Bildung der Keimblätter und des Blutes im Hühnerei.  
Arch. mikr. Anat., 10, 145-199 (1874)
- Graper, L.: Die Primitiventwicklung des Hühnchens nach stereokinematographischen Untersuchungen, kontrolliert durch vitale Farbmarkierung und verglichen mit der Entwicklung anderer Wirbeltiere.  
Arch. Entwicklungsmech. Organ., 116, 382-429 (1929)
- Hamburger, V. und Hamilton, H.L.: A series of normal stages in the development of the chick embryo.  
J. Morphol., 88, 49-92 (1951)
- Hammar, G.A.: Einige Plattenmodelle zur Beleuchtung der früheren embryonalen Leberentwicklung.  
Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt. f. 1893, S. 123-156 (1893)
- Über einige Hauptzüge der ersten embryonalen Leberentwicklung.  
Anat. Anz., 13, 233-247 (1897)
- Hays, F.A. und Nicolaides, C.: Variability in development of fresh-laid hen's eggs.  
Poultry Sci., 13, 74-90 (1934)
- Hildebrandt, W.: Die erste Leberentwicklung beim Vogel.  
Anat. Hefte, 20, 73-120 (1903)
- His : Untersuchungen über die erste Anlage des Wirbelthierleibes.  
Leipzig (1868)

- Hunt, T.E.: The development of gut and its derivatives from the mesectoderm and mesentoderm of early chick blastoderms.  
Anat. Rec., 68, 349-369 (1937)
- Ivey, W.D. und Edgar, S.A.: Histogenesis of the esophagus and crop of the chicken, turkey, guinea fowl and pigeon, with special reference to ciliated epithelium.  
Anat. Rec., 114, 189-212 (1952)
- Jacobson, W.: The early development of the avian embryo. I.: Entoderm formation.  
J. Morphol., 62, 415-432 (1938)
- Keibel, F. und Abraham, K.: Normentafeln zur Entwicklungsgeschichte des Huhnes (Gallus domesticus).  
Verlag Gustav Fischer, Jena (1900)
- Kionka, H.: Die Furchung des Hühnereies.  
Anat. Hefte, 3, 396-443 (1894)
- Künzel, E.: Die Entwicklung des Hühnchens im Ei.  
Paul Parey in Berlin und Hamburg, Verlag für Landwirtschaft, Veterinärmed., Gartenbau und Forstwesen (1962).
- Lillie, F.R.: The development of the chick.  
Henry Holt and Co., 2nd. ed., New York (1940)
- Locy, W.A. und Larsell, O.: The embryology of the bird's lungs based on observations of the domestic fowl.  
Am. J. Anat., 19, 447-504 und 20, 1-44 (1916)

Lutz, H.: Contribution expérimentale à l'étude de la formation de l'endoblaste chez les oiseaux.  
J. Embryol. exptl Morphol., 3, 59-76 (1955)

Merker, H.J.: Die Lysosomen, eine neue Zellorganellgruppe.  
Berlin. Med., 15, 237-244 (1964)

Elektronenmikroskopische Morphologie der intestinalen Resorption. The fine structure of intestinal resorption.

Sonderdruck aus: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie. Gustav Fischer Verlag Stuttgart (1969)

Nicolet, G.: La chronologie d'invagination chez le poulet.  
Experientia, 23, 576-577 (1967)

Noack, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der unbebrüteten Hühnerkeimscheibe.  
Inauguraldissertation, Berlin (1969)

Novikoff, A.B. und Quintana, N.: Golgiapparatus and lysosomes.  
Fed. Proc., 23, 1023-1025 (1964)

Nowack, K.: Neue Untersuchungen über die Bildung der beiden primären Keimblätter und die Entstehung des Primitivstreifens beim Hühnerembryo.  
Inauguraldissertation, Berlin (1902)

Öllacher, J.: Untersuchungen über die Furchung und Blätterbildung im Hühnerei.  
Stud. a. d. Inst. f. exper. Pathol., Wien 1, (1869)

- Pasteels, J.: On the formation of the primary entoderm of the duck (*Anas domestica*) and on the significance of the bilaminar embryo in birds.  
Anat. Rec., 93, 5-51 (1945)
- Patten, B.M.: Early embryology of the chick.  
4th ed., The Blakiston Co., New York (1951)
- Patterson, J.T.: Gastrulation in the pigeon's egg. A morphological and experimental study.  
J. Morphol., 20, 65-124 (1909)
- Peter, K.: Untersuchungen über die Entwicklung des Dotterentoderms.  
I.: Die Entwicklung des Entoderms beim Hühnchen.  
Z. mikr. anat. Forsch., 43, 362-415 (1938 a)  
II.: Die Entwicklung des Entoderms bei der Taube.  
Z. mikr. anat. Forsch., 43, 416-450 (1938 b)
- Rawles, M.E.: A study in the localization of organ-forming areas in the chick blastoderm of the head process stage.  
J. exptl. Zool., 72, 271-315 (1936)
- Remak : Untersuchungen über die Entwicklung der Wirbelthiere.  
Berlin (1855)
- Rosenquist, G.C.: A radioautographic study of labeled grafts in the chick blastoderm: Development from primitive streak stages to state 12.  
Carnegie Inst. Wash., Contrib. to Embryol., 38, 71-110 (1966)

Rudnick, D.: Early history and mechanics of the chick blastoderm.

Quart. Rev. Biol., 19, 187-212 (1944)

- Development of the digestive tube and its derivatives.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 55, 109-116 (1952)

Rudnick, D. und Rawles, M.E.: Differentiation of the gut in chorio-allantoic grafts from chick blastoderms.

Physiol. Zool., 10, 381-395 (1937)

Sasse, D.: Glykogen in der Ontogenese des Verdauungstraktes. Chemomorphologische und stoffwechsel-histochemische Analyse. Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte, Bd. 40, Heft 2. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

Schweichel, J.V.: Morphological studies on the problem of physiological cell death during embryonic development.

In: Metabolic pathways in embryos.

I. Symposium des SFB I. (1970), im Druck.

Seessel, A.: Zur Entwicklungsgeschichte des Vorderdarms.

Arch. f. Anat. u. Physiol., Anat. Abt., S. 449-467 (1877)

Shore, Th.W.: Notes on the origin of the liver.

J. Anat. Physiol. (1891)

Stalsberg, H. und De Haan, R.L.: Endodermal movements during foregut formation in the chick embryo.

Dev. Biol., 18, 198-215 (1968)

Usadel, K.H., Drews, V. und Kussäther, E.: Cholin-esterase-Aktivität in Primitivknoten, in der Schwanzknospe und bei der Chordaentwicklung.

Histochemie, 8, 219-236 (1967)

Vakaet, L.: Some new data concerning the formation of the definitive endoblast in the chick embryo.

J. Embryol. exptl. Morphol., 10, 38-57 (1962)

Wessells, N.K. und Cohen, J.H.: Early pancreas organogenesis: morphogenesis, tissue interactions and mass effects.

Dev. Biol., 15, 237-270 (1967)

Wessells, N.K. und Evans, J.: Ultrastructural studies of early morphogenesis and cytodifferentiation in the embryonic mammalian pancreas.

Dev. Biol., 17, 413-446 (1968)

Wetzel, R.: Untersuchungen am Hühnchen. Die Entwicklung des Keims während der ersten beiden Bruttage.

Arch. Entwicklungsmech. Org., 119, 188-321 (1929)

Abb. 1

Flache Dottersackendothelzelle (E) während der  
Bildung des Dottersackes, in engem Kontakt (↑)  
mit Dottergranula (D).

Vergrößerung 1 : 35 000

$\mu$

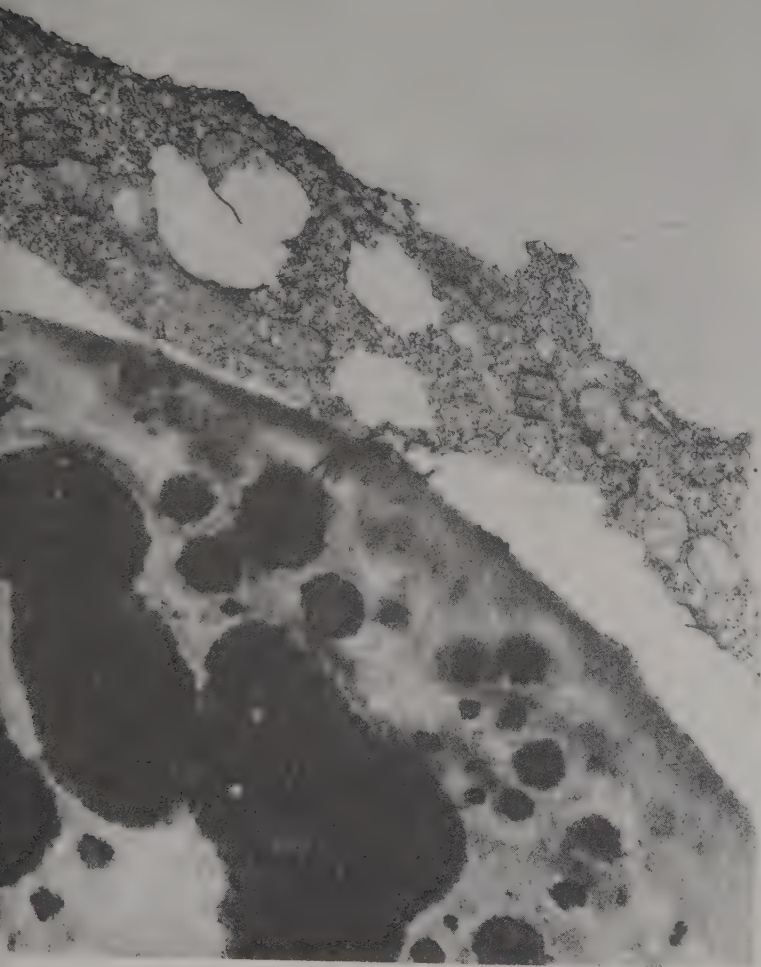
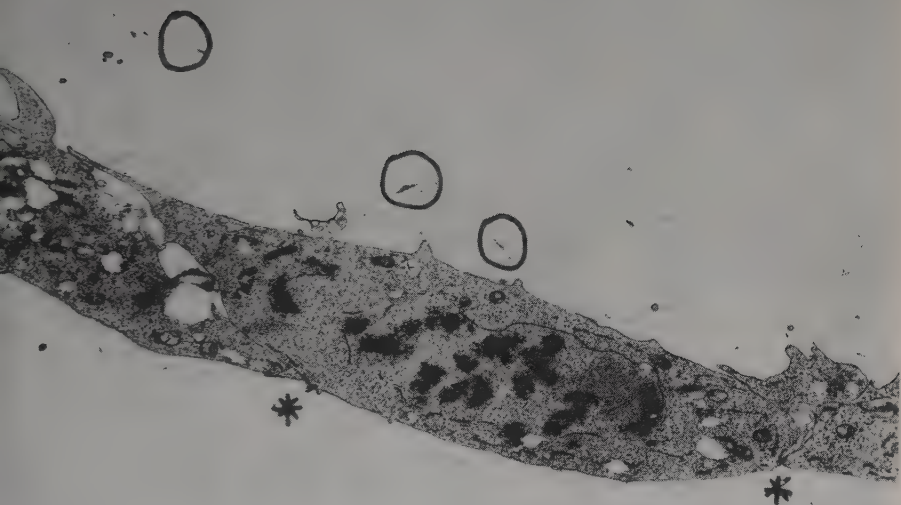


Abb.2

Flache Entodermzelle während einer Mitose.  
Zellkontakte (\*) bleiben erhalten. D gibt  
die Richtung zum Dottersack hin an. MI bezeich-  
net den mesenchymalen Interzellularraum mit  
einzelnen filamentären Strukturen (O).  
Vergrößerung 1 : 7 000

MI



10  $\mu$

Abb. 3

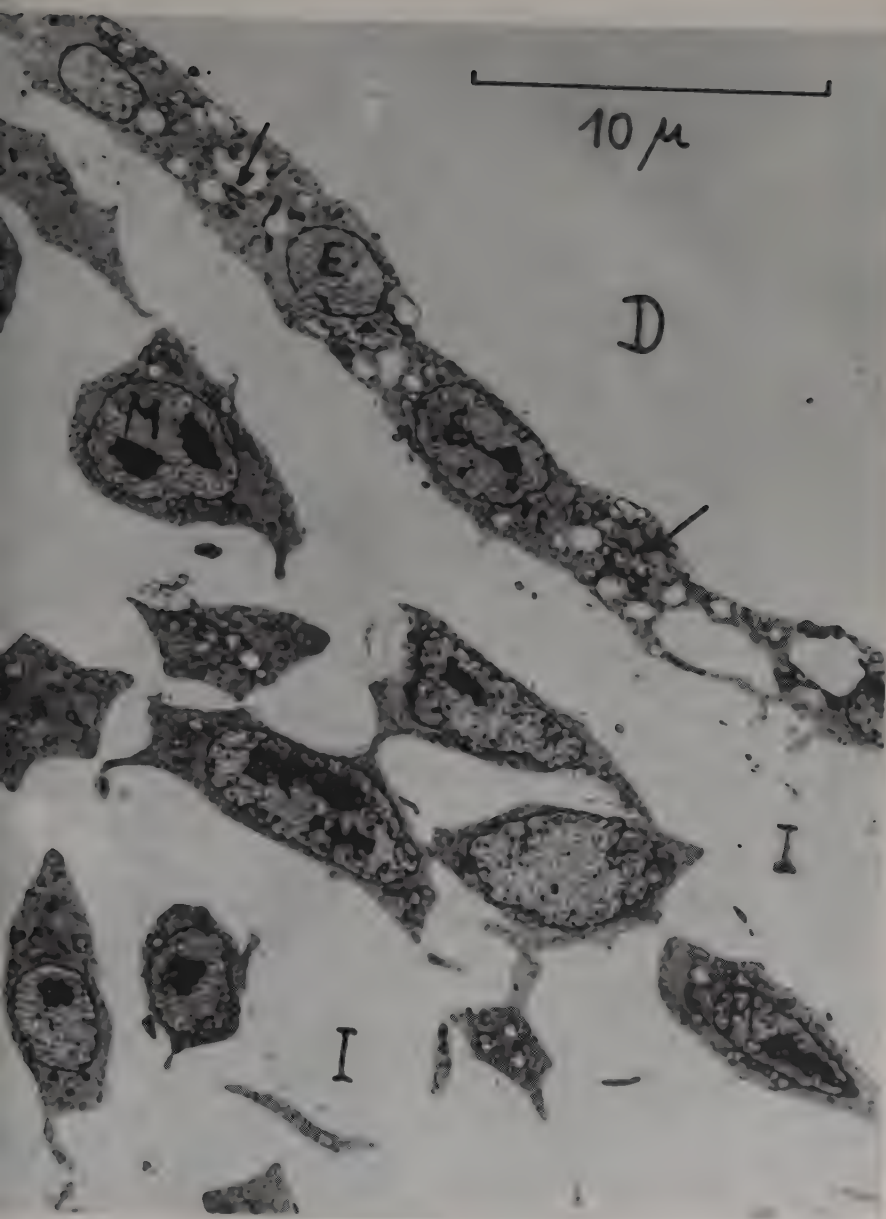
Entodermzellen (E) bereits etwas verdickt und  
mit Fetteinschlüssen (↑) beladen.

M = Mesenchymzellen

I = mesenchymaler Interzellularraum

D = Dottersacklumen

Vergrößerung 1 : 7 000



10  $\mu$

D

I

I

E

Abb. 4

Entodermzellen (E) mit Fetteinschlüssen (↑) in enger räumlicher Beziehung zur sogenannten ventralen Aortenanlage.

EN = Endothelzellen

GL = Gefäßlumen

I = mesenchymaler Interzellularraum

D = Dottersacklumen

Vergrößerung 1 : 8 000



Abb. 5

Entsprechender Abschnitt wie Abb. 4 bei höherer Vergrößerung. Zwischen dem Endothel (EN) bzw zwischen den Entodermzellen (E) dichte Zellkontakte (↑). Im mesenchymalen Interstitium (I) filamentäre verknäuelte Strukturen (O). Bei \*

GF = Gefäß

D = Dottersacklumen

Vergrößerung 1 : 49 000

μ

GF

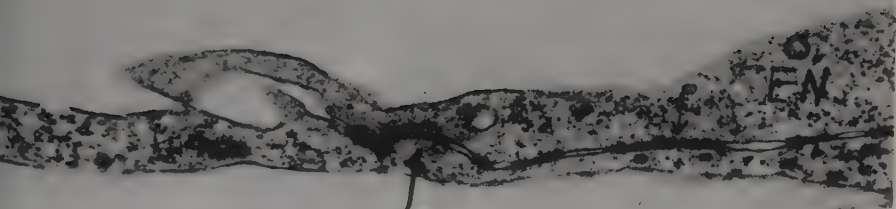


Abb. 6

Angedeutet kubische Entodermzellen (E). Zum  
Dottersacklumen (D) dichter Zellkontakt (↑).

X = erweiterter Interzellularraum

\* = beginnende Basalmembranbildung

I = mesenchymaler Interzellularraum

M = Mesenchymzellen

Vergrößerung 1: 14 000

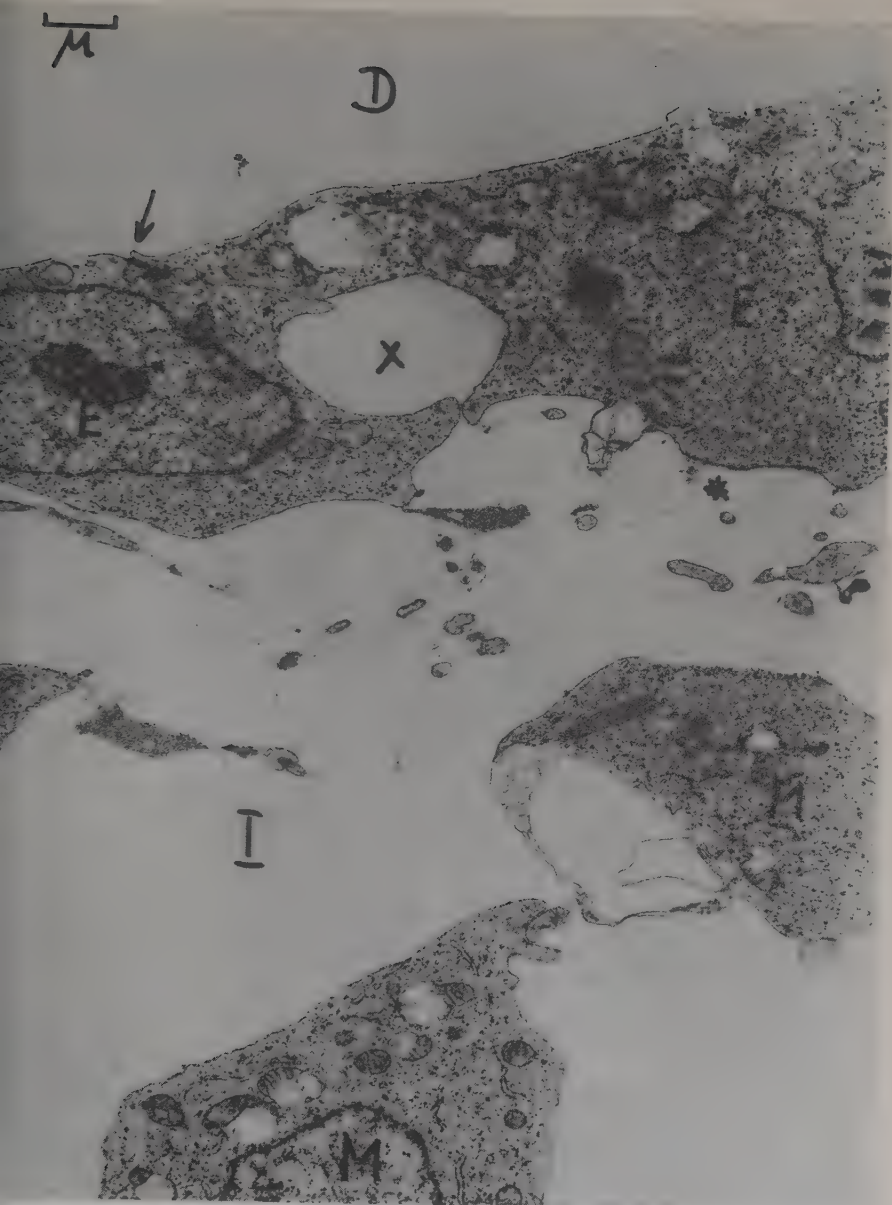


Abb. 7

Entodermzellen im Randbereich der Einstülpung.

E 1 = noch kubische Zellen

E 2 = bereits hochzylindrische Zellen

I = mesenchymales Interstitium

EN = Endothel eines ventralen Gefäßes

ER = Erythroblast

D = Dottersacklumen

Vergrößerung 1 : 5 250

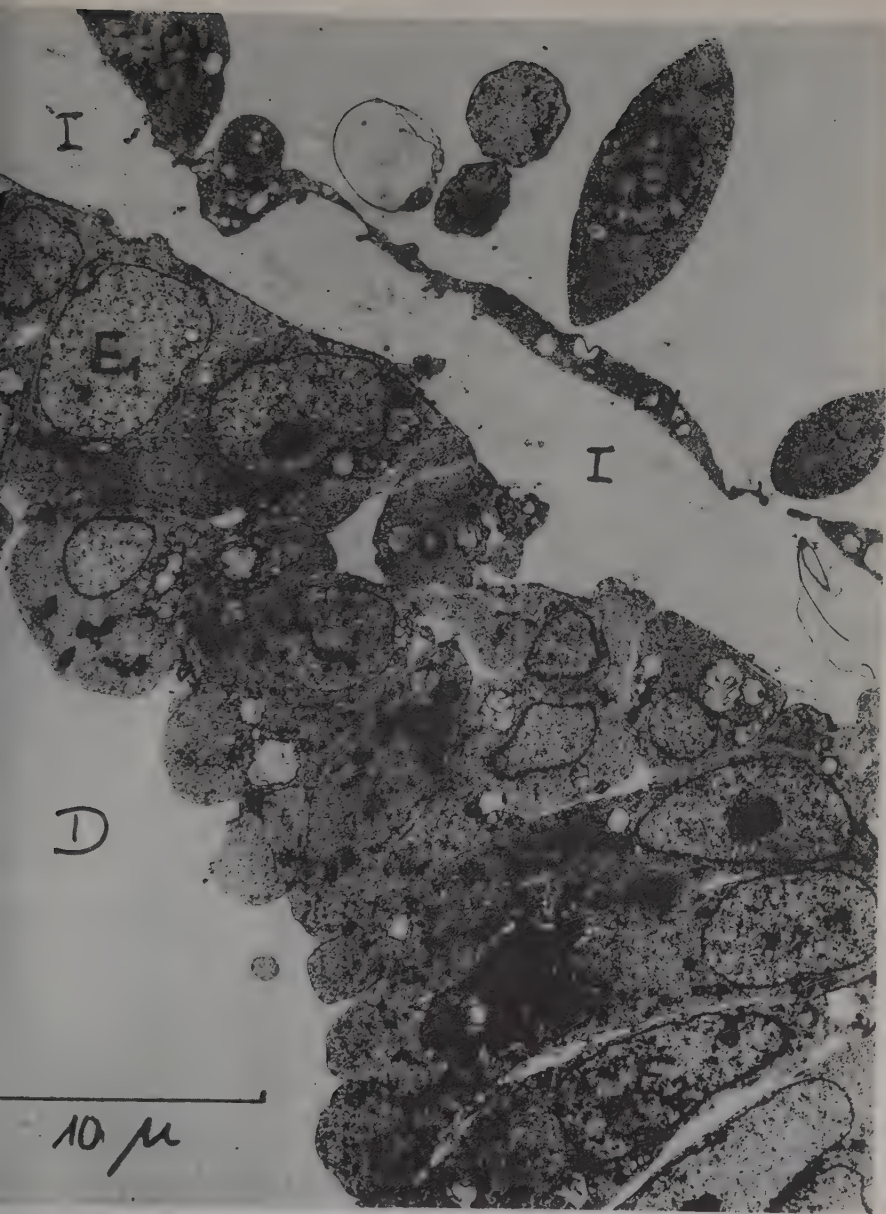


Abb. 8

Basaler Bereich hochzylindrischer Entodermzellen  
vor der Einstülpung.

Mi = typische cristaearme embryonale Mitochondrien

\* = angedeutete Basalmembranbildung mit feinen  
Filamenten

O = Polysomen

I = mesenchymaler Interzellularraum

M = Mesenchymzelle

Vergrößerung 1 : 35 000

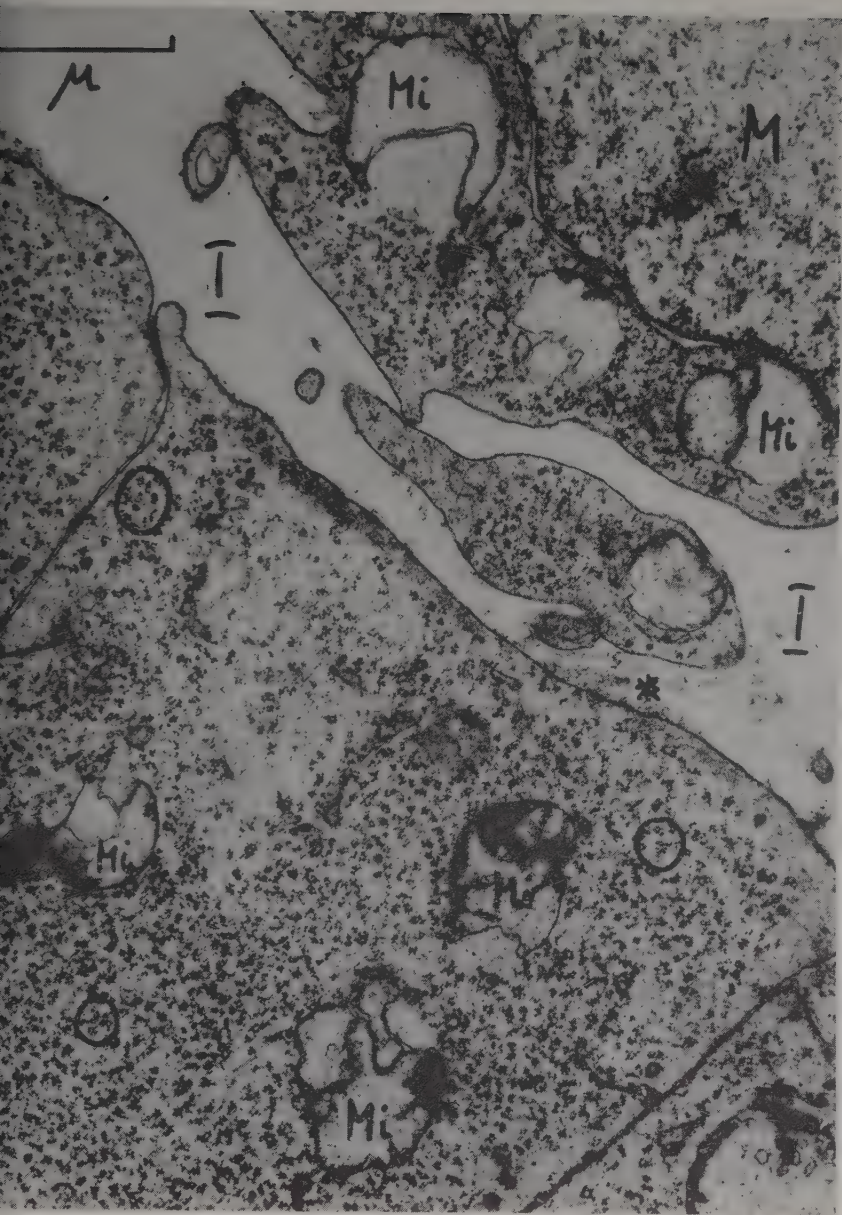


Abb. 9

Abschnürungsstelle (↑) des Entodermrohres vom  
Dottersackentoderm (DE).

L = Lumen des Entodermrohres

Vergrößerung 1 : 5 250

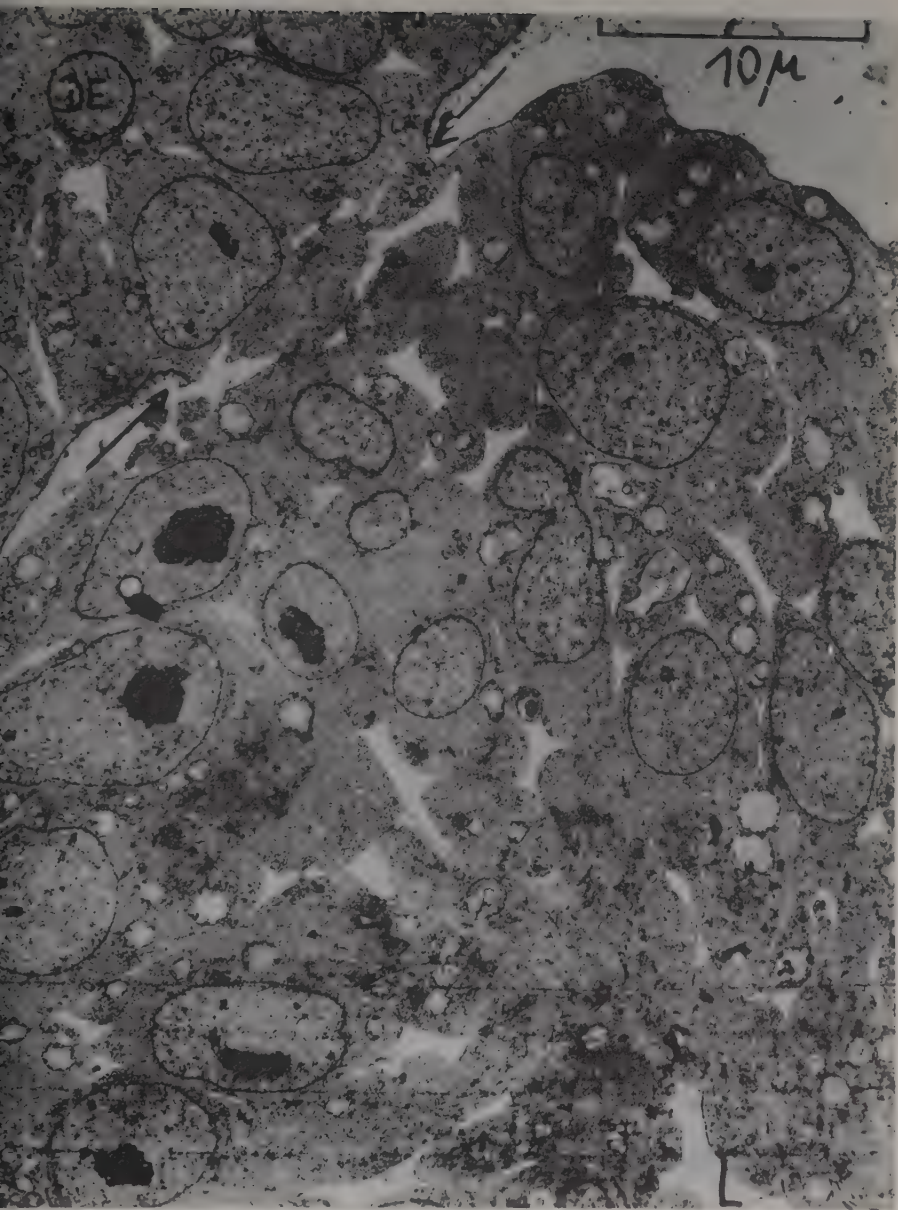


Abb. 10

Mesenchymale Freßzelle (M) aus der Abschnürungs-  
zone des Entodermrohres vom Dottersackepithel  
mit großem Phagolysosom (↑).  
Vergrößerung 1:21 000

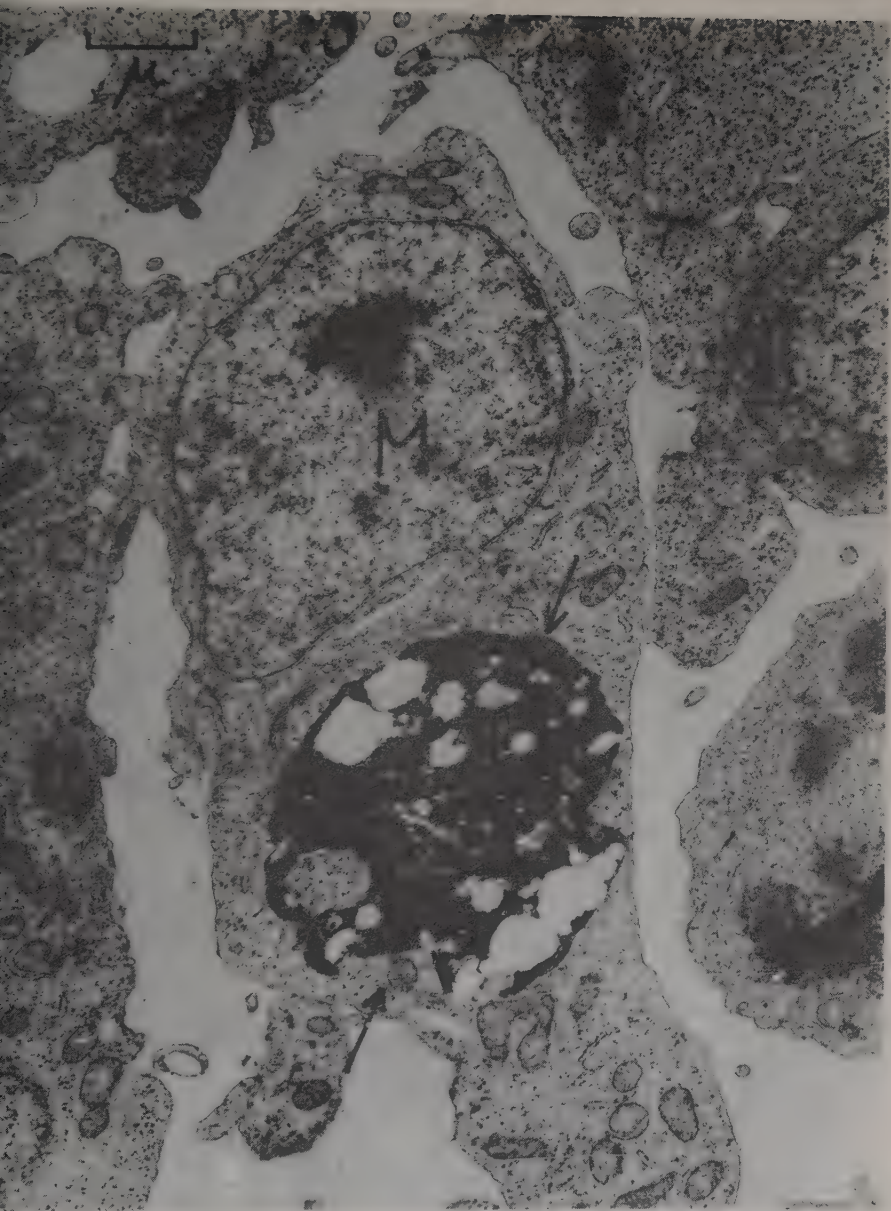


Abb. 11

Zylindrische Entodermzellen während der Einstülpung.

E = zylindrische Entodermzellen

I = mesenchymaler Interzellularraum

M = Mesenchymzelle

Mi = abgekugelte Entodermzelle in Mitose

Vergrößerung 1 : 5 250

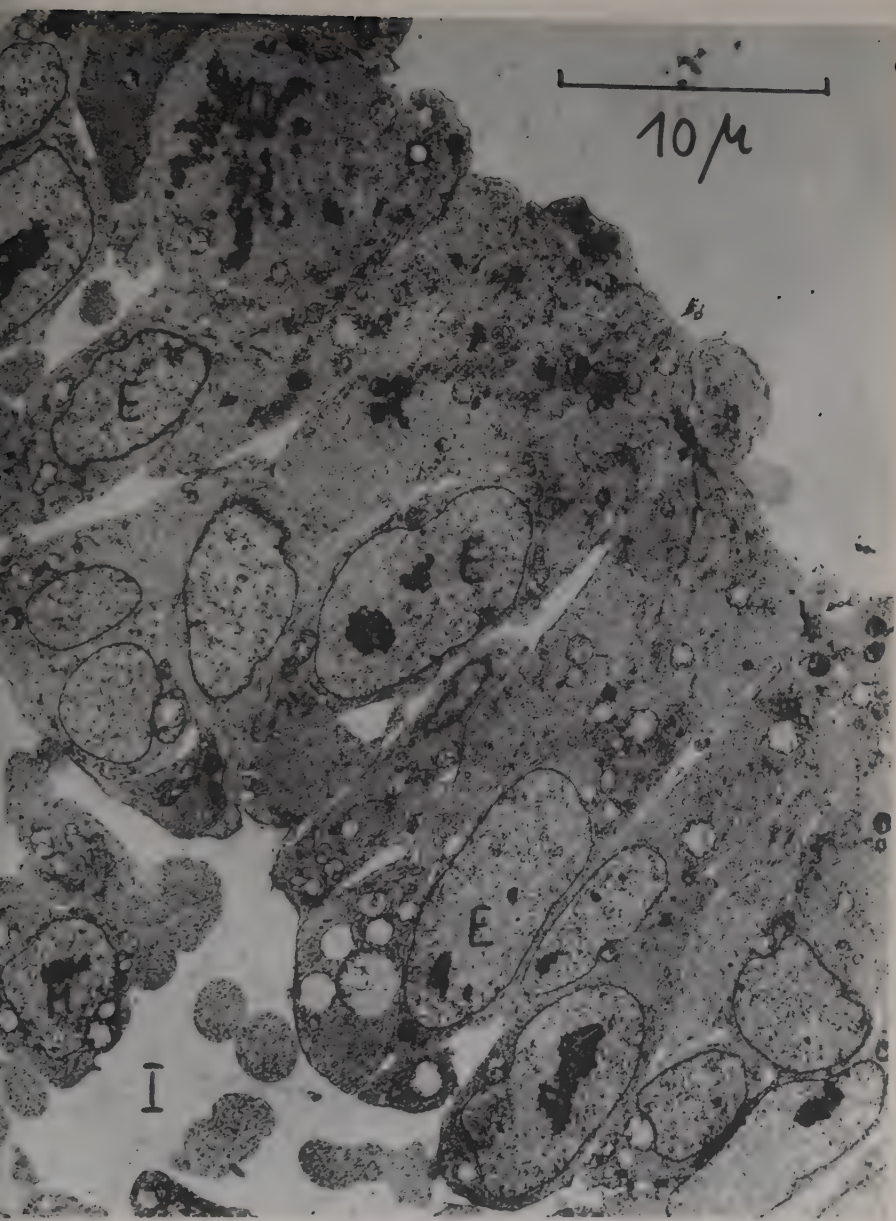


Abb. 12

Entoderm- bzw. Darmepithelzellen (E) nach der  
Abschnürung. Grenze zum Mesenchym (M) scharf (↑)  
Basalmembran zum Teil bereits vorhanden.

M = Mesenchymzellen

X = Fetteinschlüsse

Vergrößerung 1 : 7 000

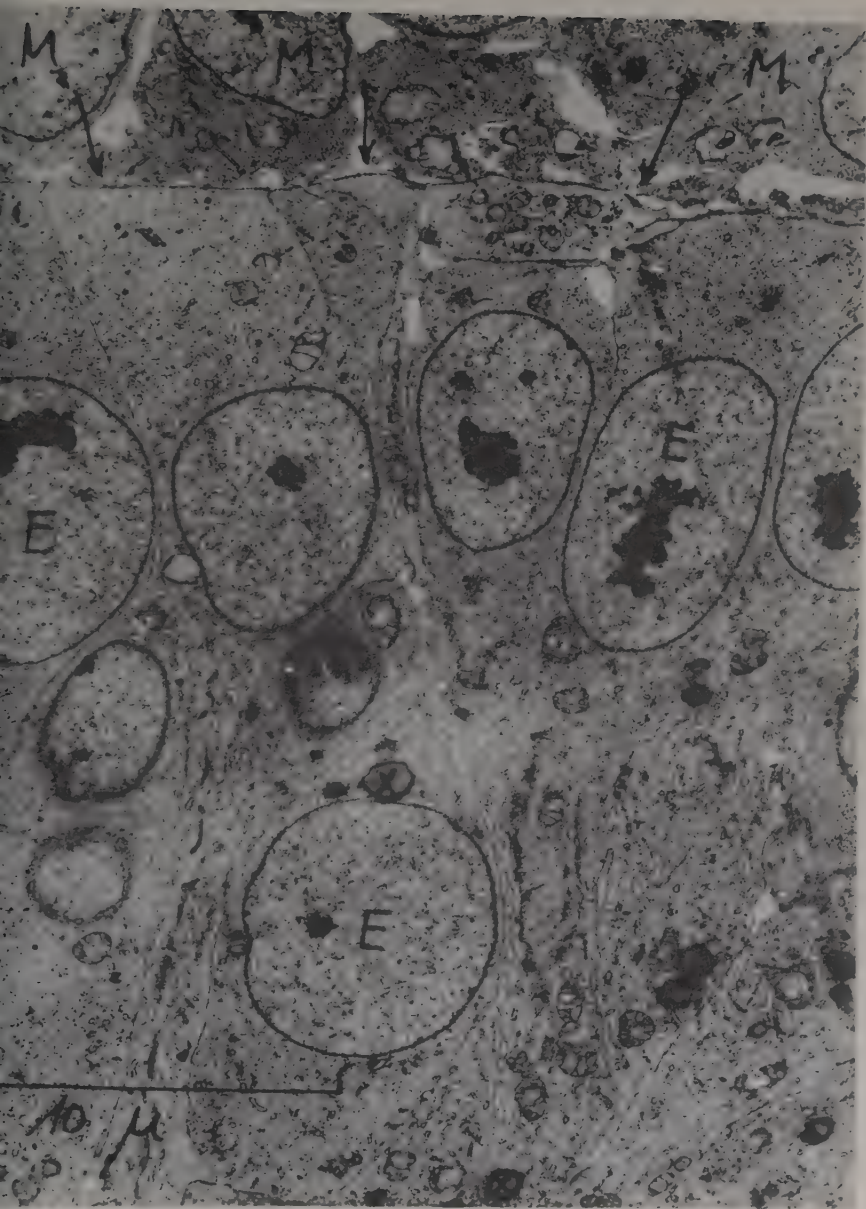


Abb. 13

Apikaler Bereich des Darmrohres mit dichten  
Zellkontakten, tight junctions (↑).

DL = Darmlumen.

O = Polysomen

Vergrößerung 1 : 77 000



Abb. 14

Fertig gebildetes Darmrohr und Darmlumen (L),  
mehrröhiges Epithel (E) mit zahlreichen  
Fetteinschlüssen (↑).  
Vergrößerung 1 : 7 000

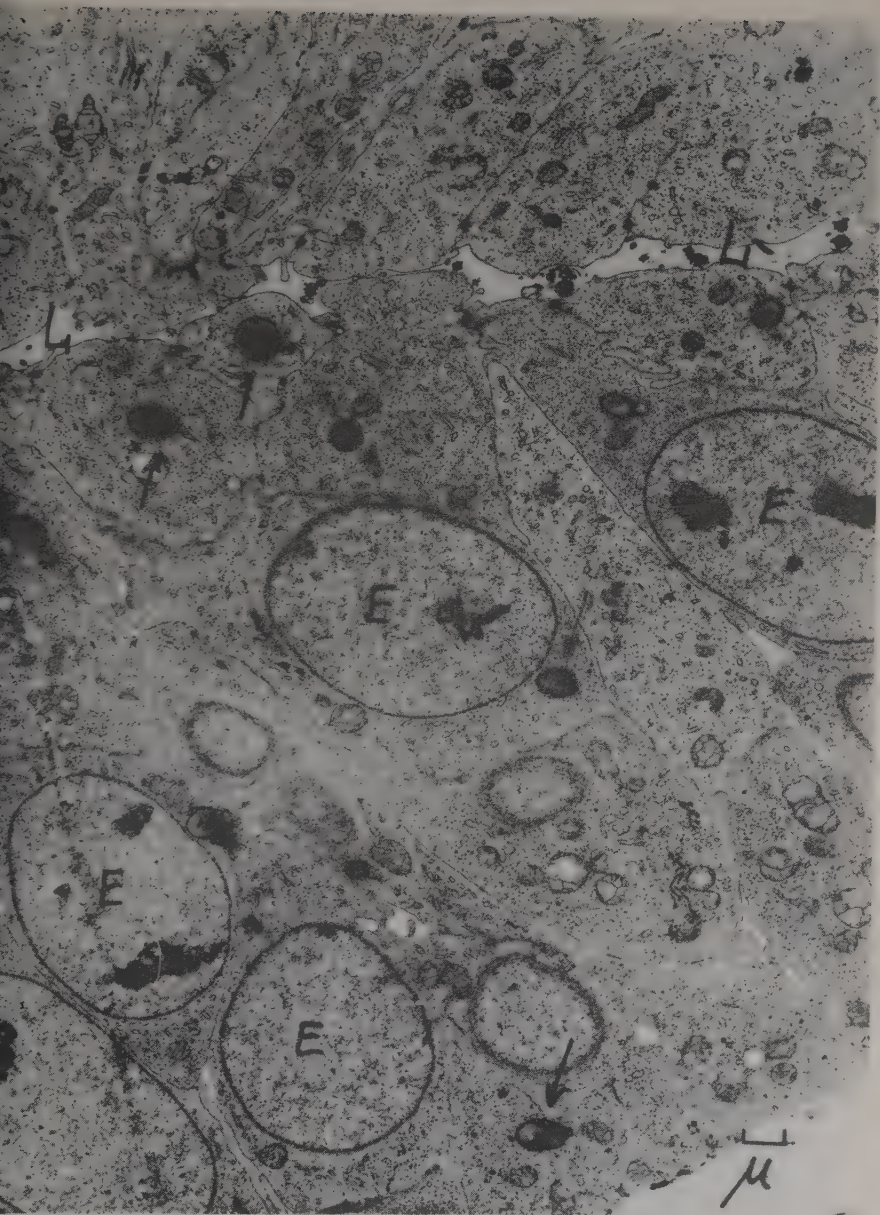


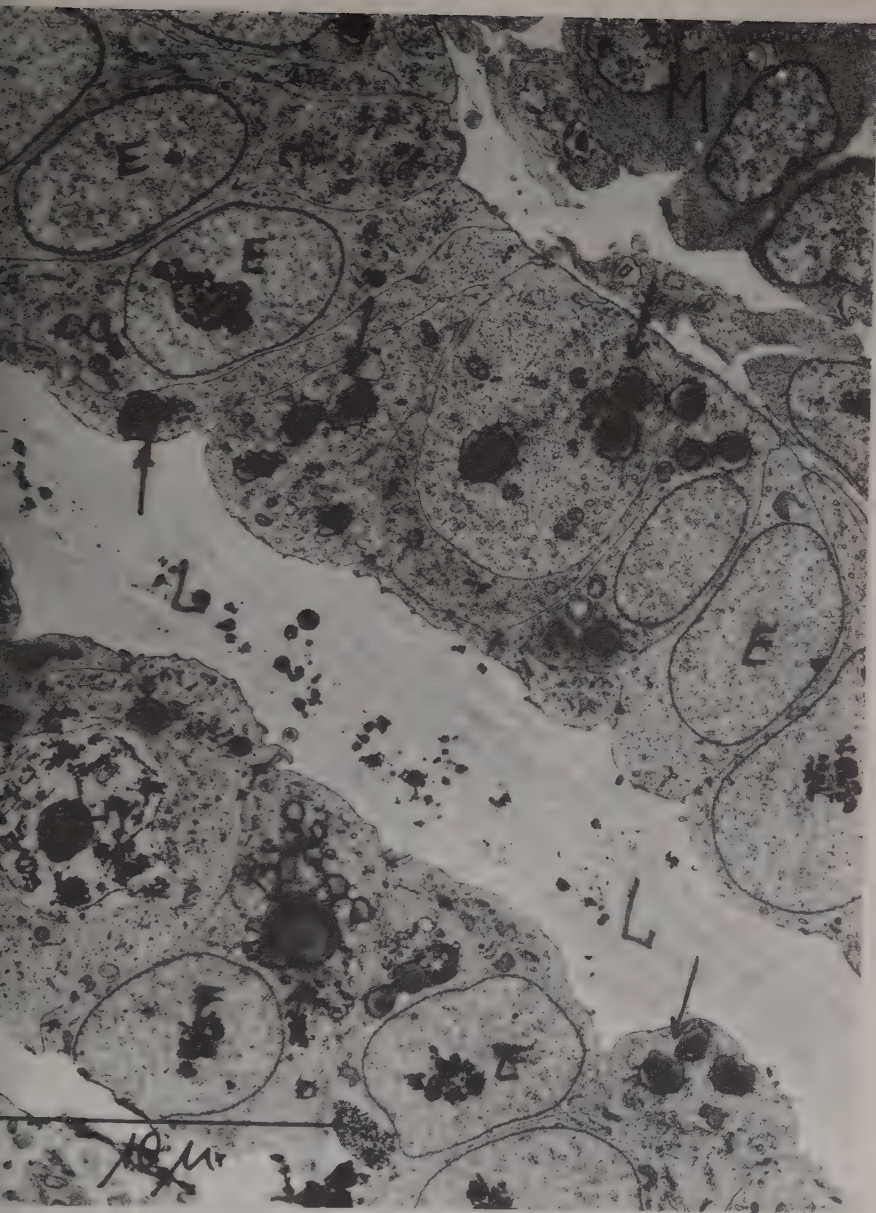
Abb. 15

Fertig ausgebildetes Entodermrohr mit kubischen Zellen (E), zahlreichen Fetteinschlüssen (↑) und einem lysosomalen Einschluß (Ly).

L = Lumen

M = Mesenchym

Vergrößerung 1 : 7 000





Herrn Prof. Dr. med. H.J. Merker danke ich für  
die Überlassung des Themas

"Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Ento-  
dermepithel in den frühen Phasen der Entwicklung  
des Hühnchens".

Außerdem danke ich allen Mitarbeitern des Insti-  
tutes für die Hilfsbereitschaft, mit der sie mir  
zur Seite standen.

Berlin, den 9. 8. 71

### Lebenslauf

Am 27.3.44 wurde ich als Sohn des Physikers Herbert Reibedanz und seiner Ehefrau Margarete in Berlin Lichterfelde geboren.

Nach kriegsbedingten, zwischenzeitlichen Aufenthalten in Rußland und Dresden lebe ich seit 1958 in Berlin. Hier besuchte ich die Tannenberg-Schule in Lichterfelde Ost, wo ich am 21.2.64 das Abitur ablegte.

Seit dem Sommersemester 1964 bin ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert, der ich seitdem ununterbrochen angehört habe.

Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 23.3.67 mit der Note "gut". Das medizinische Staatsexamen legte ich am 13.8.70 mit der Note "sehr gut" ab.

Peter Reibedanz



